

MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE MONOS NOCTURNOS (*Aotus sp.*)
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

BELTRAN CRISTANCHO YENNI HASBLEIDY
MARTINEZ GARCIA JHON ALEXANDER
SANABRIA FLOREZ KAREN

UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
TRABAJO DE GRADO
BOGOTA 2020

MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE MONOS NOCTURNOS (*Aotus sp.*)
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

BELTRAN CRISTANCHO YENNI HASBLEIDY
MARTINEZ GARCIA JHON ALEXANDER
SANABRIA FLOREZ KAREN

DIRECTORA DE TRABAJO DE GRADO:
LILIANA MARIA ROJAS.
M.V, MSc

UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
TRABAJO DE GRADO.
BOGOTA 2020.

Tabla de contenido

Introducción.....	6
Planteamiento del problema y justificación.....	7
Objetivos.....	9
Objetivos generales.....	9
Objetivos específicos.....	9
Marco teórico.....	10
Morfología.....	12
Comportamiento y hábitat.....	13
Distribución Geográfica.....	14
Estado de conservación.....	15
Métodos diagnósticos.....	18
Identificación fenotípica.....	18
Cariotipo.....	25
PCR.....	27
Metodología.....	31
Resultados.....	32
Discusión.....	34
Conclusiones.....	38
Referencias bibliográficas.....	40

Índice de tablas

Tabla 1. Estado de conservación de la especie de monos <i>Aotus</i> . (UICN, 2018-2020).....	8
Tabla 2. Primates Colombianos en peligro de extinción (Defler, 2013).....	11
Tabla 3. Características fenotípicas de los monos <i>Aotus</i> . Hernández Camacho & Cooper (1976) y Hershkovit (1983).....	20
Tabla 4. Caracterización cariologica de monos <i>Aotus</i> . Defler (2010).....	25
Tabla 5. Análisis para su clasificación por tema de interés.....	32
Tabla 6. Análisis de información de artículos científicos en diferentes idiomas.....	32
Tabla 7. Ventajas y desventajas de los métodos de identificación de especies.....	33

Índice de figuras

Figura 1. Asociación Primatológica Colombiana (<i>Aotus</i> sp, Foto: Lester Wareham, 2011)....	12
Figura 2. Análisis filogenético de diferentes especies del género <i>Aotus</i> utilizando el gen mitocondrial citocromo II oxidasa. Distribución de 9 especies y 4 subespecies de <i>Aotus</i> reconocidas (Camargo, 2009).....	14
Figura 3. No más caza y experimentación cruel con los monos <i>Aotus</i> por el Instituto FIDIC (Nossa, 2017).....	16
Figura 4. Monos nocturnos en amenaza: un nuevo estudio científico analiza su situación en el Perú (López, 2017).....	17
Figura 5. Historia natural de los primates colombianos. (Defler, 2010).....	18
Figura 6. <i>Aotus brumbacki</i> . (Hershkovitzi, 1983).....	21
Figura 7. <i>Aotus vociferans</i> . Asociación primatologica Colombiana (2017).....	22
Figura 8. <i>Aotus trivirgatus</i> . (Humblet, 1812).....	23
Figura 9. <i>Aotus jorgehernandezi</i> . (Torres et al 1998).....	23
Figura 10. <i>Aotus nigriceps</i> . (Du santos, 2008).....	24
Figura 11. <i>Aotus nancymae</i> . (Sánchez, 2019).....	24
Figura 12. Reacción en cadena de la polimerasa. Perfil térmico típico de una PCR. (Pérez de Castro, 2011).....	28

Introducción

Colombia posee una de las faunas más variadas del mundo por su biodiversidad. Es el 4to país respecto al número de mamíferos registrados: 471 especies confirmadas hasta el momento. Los primates son los parientes más cercanos al ser humano, existen alrededor de 260 especies de monos conocidas alrededor del mundo (Defler, 2004). Una de las especies presentes en Colombia son las pertenecientes al género *Aotus*, también llamados “monos nocturnos”.

Actualmente esta especie es categorizada por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN). De las 8 especies de monos nocturnos presentes en Colombia, la mitad se encuentra en peligro de extinción bajo la categoría de especies vulnerables (*A. griseimembra*, *A. zonalis*, *A. lemurinus*, *A. brumbacki*) (ASP, 2015). Tres de estos monos, se encuentran en la categoría de especies de preocupación menor (*A. trivirgatus*, *A. vociferans*, *A. azarae*, *A. nigriceps*). Y de las especies en peligro de extinción, se destaca el mono nocturno andino (*Aotus miconax*)

El estudio del género *Aotus* a través de características morfológicas y genéticas ha producido una taxonomía controvertida, puesto que se han reportado varios cariotipos que reflejan una gran diversidad citogenética, tanto numérica como estructural y en ambos niveles, intra e interespecífica (Castrillón, 2009). Esto lleva a la necesidad de realizar un estudio de sus características cariotípicas o de ADN con el fin de distinguir una especie de otra, ya que fenotípicamente algunas de las subespecies de monos *Aotus* son idénticas. A pesar de las diferencias, se hace necesario el uso de métodos de caracterización citogenética o estudios moleculares, para la identificación de las especies, debido a su gran sensibilidad y especificidad, utilizando cariotipo y PCR convencional.

Las técnicas moleculares aportan métodos para caracterizar, identificar y asignar especies y poblaciones, evalúan el estado genético, proponen medidas para preservar la diversidad, facilitando la gestión y conservación de los individuos amenazados (Godoy, 2009).

El estudio citogenético, permite diferenciar grupos taxonómicos con características fenotípicas similares y grupos aparentemente distintos. El interés en esta técnica se debe a su alta fiabilidad y reproducibilidad, ya que su aplicación mejora el porcentaje de acierto en la identificación de especies, en menor tiempo y con alto grado de precisión, en el caso de la identificación de los monos *Aotus* (Arenas, 2012).

Planteamiento del problema y Justificación

Esta investigación hará alusión a un solo tipo de género de los primates: *Aotus sp*, también llamado “mono nocturno”. Debido a que Colombia es el país más diverso en especies de *Aotus*, probablemente se encuentran todas las especies del grupo de cuello gris, por lo tanto, es un país clave para la conservación de monos nocturnos y el estudio de la filogenética del género (Ruiz García, et al. 2013). Es el séptimo primate más diverso del neo trópico con 11 especies y ocho de estas especies se encuentran en Colombia (Asociación Primatológica Colombiana, 2015).

El género *Aotus* es uno de los más controvertidos entre los platirrinos vivientes, debido a sus caracteres particulares que generan confusas relaciones filogenéticas (Tejedor, 2001). Siendo una especie sometida a diversos estudios como modelo biológico, no presenta una filogenia totalmente esclarecida o solucionada y su taxonomía sigue siendo cuestionable a partir de las parciales inconsistencias en estudios que incluyen características morfológicas, citológicas, genéticas, etológicas entre otras (Horovitz, et al, 1998).

Herskovitzi (1983) diferenció dos grupos de monos nocturnos por características fenotípicas y susceptibilidad a la malaria. Además, reconoció 11 a 12 especies. *A. lemurinus*,

A. brumbacki, *A. vociferans*, *A. griseimembra*, *A. jorgehernandezi*, *A. zonalis*, y *A. trivirgatus*. Estos grupos han sido nombrados, como los de “cuello gris” que se distribuye al norte del río Amazonas y Marañón, que evidencia un pelaje de los lados del cuello de un color gris variando hacia castaño- anteado y en el cual los cromosomas 6 y 7 son discretos. El otro grupo, es de “cuello rojo” (*A. nancymae*, *A. miconax*, *A. nigriceps* y *A. azarae*) que se encuentra principalmente al sur de estos ríos, tiene pelaje parcial o completamente de coloración rojo a anaranjado en las mismas porciones del cuello y en el que los pares de cromosomas 6 y 7 tiene una translocación de los brazos. Se plantea la existencia de 6 cariomorfos distintos en los *Aotus* del norte, que representan 6 especies biológicas, lo que implica que existen barreras reproductivas entre ellas lo que hace importante para nosotros el conocer sus diferencias. (Defler, 2003, 2004, 2010; Defler & Bueno, 2007).

Tabla 1. Estado de conservación de la especie de monos *Aotus*. (IUCN (2018-2020))

	Categoría
<i>A. lemurinus</i>	VU
<i>A. griseimembra</i>	VU
<i>A. brumbacki</i> ,	VU
<i>A. zonalis</i>	VU
<i>A. trivirgatus</i>	Preocupación menor
<i>A. vociferans</i>	Preocupación menor
<i>A. jorgehernandezi</i>	Datos insuficientes
<i>A. nancymae</i>	VU
<i>A. miconax</i>	En peligro
<i>A. azarae</i>	Preocupación menor
<i>A. nigriceps</i>	Preocupación menor

Objetivos

Objetivo general:

Realizar una revisión literaria de los métodos para la identificación de la especie de monos nocturnos (*Aotus sp.*).

Objetivos específicos:

1. Describir los métodos de identificación de las especies de monos nocturnos (*Aotus sp.*) existentes.
2. Comparar de acuerdo a lo descrito en la literatura los métodos disponibles (identificación fenotípica, citogenética y marcadores moleculares) y establecer cuál de ellos es el más efectivo.

Marco Teórico

Los primates son los parientes evolutivos más cercanos al ser humano, muchos investigadores los estudian con el objetivo de aprender más sobre su origen. El primate es considerado, un mamífero semiforme, mismo orden al que pertenece el ser humano. Existen alrededor de 260 especies de monos conocidas alrededor del mundo (Herskovitz, 1977).

Viven en bosques tropicales y se divide en dos subórdenes: *Strepsirrhini* (los monos y simios del Viejo Mundo) y los *Platyrrhini* (o primates neo tropicales). Tal división se basa en diferencias en la piel glandular que rodea la nariz, el tipo de oído externo, los dedos del pie, las mamas, la porción facial del cráneo, las órbitas, los huesos lacrimales, la sínfisis de la mandíbula, la fórmula dental y el tipo de placenta (Herskovitz, 1977). Los primates colombianos son considerados en el infra orden *Platyrrhini*, haciendo referencia a una nariz ancha plana.

De las 30 especies de primates colombianos (40 taxones), el 21 o 53 % se encuentran en peligro de extinción de acuerdo con la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (Defler, 2013). Se utilizan tres categorías: En peligro crítico (CR), En peligro (EN) y Vulnerable (VU) (Tabla.1). Dentro de los primates con más diversidad en Colombia se encuentra el género *Aotus*. Probablemente se encuentran todas las especies del grupo de cuello gris, por lo tanto, es un país clave para la conservación de monos nocturnos y el estudio de la filogenética del género (Ruiz García, et al., 2013).

Tabla 2. Primates Colombianos en peligro de extinción (Defler et al, 2013).

En peligro crítico (CR)	www.redlist.org	Libro rojo de los mamíferos de Colombia (Rodríguez et al. (2006)	Porcentaje de la distribución representada por la población colombiana
<i>Ateles hybridus hybridus</i>	CR	CR	40
<i>Ateles hybridus brunneus</i>	CR	CR	100
<i>Ateles geoffroyi rufiventris</i>	CR	EN	100
<i>Lagothrix lagothricha lugens</i>	CR	EN	100
<i>Saguinus oedipus</i>	CR	EN	100
<i>Callicebus caquetensis</i>	CR sometido a IUCN	CR	100
Amenazada (EN)			
<i>Ateles belzebuth</i>	EN	VU	10-15
<i>Saguinus leucopus</i>	EN	VU	100
<i>Cebus albifrons versicolor</i>	EN	NT	80
<i>Cebus albifrons malitiosus</i>	EN	NT	100
Vulnerable (VU)			
<i>Calimico goeldii</i>	VU	VU	20?
<i>Lagothricha lagothricha lagothricha</i>	VU	VU	50
<i>Aotus griseimembra</i>	VU	VU	70
<i>Aotus brumbacki</i>	VU	VU	100
<i>Aotus zonalis</i>	VU	VU	80
<i>Aotus lemurinus</i>	VU	VU	70?
<i>Callicebus ornatus</i>	VU	VU	100
<i>Callicebus discolor</i>	VU	VU	5
<i>Callicebus torquatus medemi</i>	VU	VU	100
<i>Alouatta palliata aequatorialis</i>	VU	VU	50
<i>Saimiri sciureus albigena</i>	VU sometido a IUCN	LC	100

El nombre genérico se deriva del latín “A”= sin, “otis”=orejas, pues su denso pelaje y distribución lo hace parecer carecer de ellas (Defler, 2003, 2004, 2010). Los nombres

comunes son marta, martica, mono nocturno, mico de noche, mico de noche andino: *Aotus Lemurinus*, mico de noche Chocoano: *Aotus Zonalis*, mico de noche caribeño: *Aotus Griseimembra*, mico de noche llanero: *Aotus Brumbacki*, mico de noche amazónico: *Aotus Vociferans*.

Estos son primates con una dieta basada en frutas, néctar e insectos y viven en grupos socialmente monógamos que defienden activamente su territorio (Fernández, 2007). Su gestación dura entre 126-159 días (una cría por parto). (Aparicio P, López C. 2016).

Morfología



Figura 1. Asociación Primatológica Colombiana (*Aotus* sp, Foto: Lester Wareham, 2011).

Son animales nocturnos, de allí la presencia de ojos grandes en comparación con otras especies de primates. Su cuerpo está densamente cubierto por pelo moderadamente largo de colores vistosos (Defler, 2010). Poseen tres líneas gruesas de pelos oscuros contrastantes que se extienden sobre la frente y a los lados de la cara conformando una especie de disco facial (Varela, 2013).

Algunas especies presentan manchas blancas encima de los ojos y mejillas, las cuales posiblemente sirvan como marcas de identificación de un individuo a otro. Sus manos se componen de dedos largos y delgados, y su cola es larga. Son primates de un tamaño medio

entre 24 y 47 cm, la cola tiene una longitud que varía entre 22 a 41,8 cm, con un peso corporal entre 700 y 1100 g, (Defler 2010). El color del vientre varía según las especie.

Presenta una cresta interescapular con los pelos levantados dirigidos hacia atrás y a los lados, y una glándula gular grande en la región genital (5cm) y angosta. (Varela, 2013). Esta glándula desde la pubertad empieza a generar una sustancia con la consistencia y el color de la brea, con un olor muy fuerte, eficaz para interactuar socialmente. Son fácilmente reconocibles por las vocalizaciones que presentan o por su morfología típica (Defler, 2010).

Comportamiento Y Hábitat

El género *Aotus* presentan hábitats nocturnos y arborícolas. Se alimentan de frutas e invertebrados, y consumen también hojas, flores y huevos de aves. Sus dormitorios se encuentran en huecos de árboles, en vegetación densa. Son monógamos y los grupos son pequeños de 2 a 4 individuos, generalmente la hembra, el macho y su respectiva cría.

Su hábitat se localiza en bosques secundarios y selvas húmedas, y sobreviven muy bien en hábitats fragmentados.

Estas especies se caracterizan por presentar en su región genital una glándula que es más desarrollada en machos que en hembras, esta glándula genera una sustancia desde la pubertad que posee un olor fuerte y que permite o es utilizada como un estímulo para la interacción social (May, 1960; Dixon et al., 1980).

El género *Aotus* se diferencia del resto de los primates del mundo por dos características prácticamente únicas dentro de estos mamíferos. Es el único antropoide que presenta hábitos de vida nocturna y uno de los pocos primates socialmente monógamos con un extenso cuidado de las crías por parte de macho adulto del grupo. El tamaño del grupo varía entre dos a seis individuos, generalmente conformado por una pareja, una cría y dos juveniles (Fernández-duque 2011).

Distribución Geográfica

El género *Aotus sp.* está ampliamente distribuido a través de Centro y Sur América (Hernández-Camacho & Cooper, 1976; Hershkovitz, 1983; Defler *et al.*, 2001). Es conocido en toda Colombia, en las zonas con alturas superiores a 3200 msnm, en el Vichada al norte del río Tomo, en el oriente de Casanare y Arauca y en algunas áreas locales montañosas y de sabana con arbustos en los departamentos de Guainía, Vaupés y Guaviare (Defler, 2010).



Figura 2. Análisis filogenético de diferentes especies del género *Aotus* utilizando el gen mitocondrial citocromo II oxidasa. Distribución de 9 especies y 4 subespecies de *Aotus* reconocidas (Camargo, 2009).

Según Ford (1994), (Figura 2), en cuanto a las especies de cuello gris presentes hacia el norte del Río Amazonas, se incluye *A. lemuringus* (Geoffroy, 1843) del norte de Colombia y Venezuela, incluye *A. l. lemuringus* se encuentra en Panamá y occidente y suroccidente de Colombia incluyendo una porción del oriente de los Andes, y *A. l. griseimembra* (Eliot,

1912) se extiende desde la costa norte de Colombia hasta el extremo noroccidental de Venezuela.

Las especies de cuello rojo se encuentran ubicadas al sur del río Amazonas, con un complejo de cinco especies que no presentan susceptibilidad a la malaria, en donde se incluyen *Aotus nancymae*, *Aotus miconax*, *Aotus azarae*, *Aotus nigriceps* y *Aotus infulatus* (Hershkovitz, 1983). El mono nocturno Andino es encontrado solo en los bosques montanos del nororiente del Perú, siendo uno de los 3 primates endémicos del país.

Este género utiliza una gran variedad de hábitats tales como bosques primarios y secundarios, alcanzando los 3200 metros sobre el nivel del mar, y habitando también bosques secos que reciben tan solo 500 mm de lluvia por año en el extremo sur de su distribución (Defler, 2003; Fernández-Duque, 2007).

El mono nocturno amazónico (*A. vociferans*) se encuentra en Colombia, Perú, Ecuador y Brasil (Morales-Jiménez et al., 2008). En la Amazonia brasileña la especie se encuentra entre los ríos Solimões y Negro y se extiende desde el sur de Colombia hasta los ríos Marañón y Amazonas en el Perú.

Estado de Conservación

De las 8 especies de monos nocturnos presentes en Colombia, la mitad se encuentra en peligro de extinción bajo la categoría de especies vulnerables (VU - Lista Roja UICN). Dos de estas cuatro especies amenazadas son endémicas de Colombia (Asociación Primatologica Colombiana, 2015). La pérdida de hábitat y el tráfico ilegal de especies silvestres son las principales amenazas para éstas y muchas otras especies de primates. Por esto, la protección de los bosques y el control de las actividades de extracción y tráfico ilegal son de crucial importancia para su conservación (Nossa, 2017). Una de las principales amenazas para la vida silvestre y su hábitat viene de la rápida pérdida de ecosistemas naturales, ya que se transforman en campos agrícolas y pastos para el ganado (Donald, 2004).

Al igual de una alta presión de caza durante los últimos 50 años, principalmente en su uso biomédico, afectando las poblaciones y su estado de conservación (Mittermeier, & Coimbra-Filho, 1983; Mittermeier et al., 1994; Maldonado, 2011; Maldonado et al., 2009; Ruiz-García et al., 2011, 2013).

La principal razón para la compra es la experimentación médica, afirmó Rosa Vento. “Los monos nocturnos son bastante parecidos a los humanos debido a las respuestas de sus sistemas inmunológicos frente a enfermedades. Es bastante conocido cómo en Colombia se les exporta para experimentos médicos”, apuntó: otras razones por las cuales las Especies de primates se encuentran en peligro de extinción en Colombia es por la pérdida de hábitat, comercio de carne, cacería, mascotas y falta de reservas y de protección efectiva (Defler, 2010).



Figura 3. No más caza y experimentación cruel con los monos Aotus por el Instituto FIDIC (Nossa, 2017).

En Colombia ha sido declarada como especie vulnerable. Según el estudio *Desapareciendo en la noche: Una revisión al tráfico de monos nocturnos y su legislación en América del Sur y América Central*: logró calcular que se comercializaron un total de 7098 individuos en los nueve países señalados anteriormente durante todo el año 2016, de los cuales 5968 individuos estaban vivos. En un análisis que se desprende del mismo estudio y que abarca desde el año 1975 hasta el 2014, se concluye que el Perú ocupa el primer

lugar en la exportación de diferentes especies de monos nocturnos vivos, 4013 individuos en el lapso de 29 años (López, 2017) (Figura 4).

Como varias especies son difíciles de reconocer sin conocimiento de cromosomas, hace difícil saber con seguridad las distribuciones de ellas (Defler y Bueno, 2010).



Figura 4. Monos nocturnos en amenaza: un nuevo estudio científico analiza su situación en el Perú (López, 2017).

Aotus Griseimembra (VU). Esta especie fue explotada durante años para investigaciones biomédicas, ahora su hábitat es muy fragmentado. Es la especie en peor estado por la fragmentación originada por la extensión de su rango de distribución y por las campañas de caza para investigación biomédica (Hernández-Camacho y Cooper, 1976; Defler y Bueno, 2010).

Aotus Zonalis (VU). Especie chocoana, disminuye por la fragmentación de su hábitat. Se desconoce su estado y densidad.

Aotus Lemurinus (VU). Su hábitat es congruente con áreas muy perturbadas (Defler, 2010).

Aotus brumbacki (VU). Esta especie no ha sido muy estudiada

Métodos diagnósticos

1. Identificación fenotípica

La información adicional proporcionada por Hernández Camacho y Cooper (1976), Hershkovit (1983), Defler (2001) y Defler & Bueno (2007), proporciona amplias descripciones morfológicas para *Aotus*. Es fácil separar las especies del sur “cuello rojo” de las especies del norte “cuello gris”. Las del cuello gris son las especies de mayor permanencia en Colombia (Tabla 2).

A. lemurinus. Es un complejo de tres especies: *A. lemurinus*, *A. zonalis*, *A. griseimembra*., se caracterizan por no poseer cresta interescapular. Se distinguieron por el pelaje corto y depresivo (densamente compactado), manos y pies de color marrón en el caso de *A. griseimembra*, en oposición a *A. Zonalis* que las manos y pies son de color negro. Todas las demás características son similares. (Figura 5).



Figura 5. Historia natural de los primates colombianos. Defler (2010)

Hernández Camacho y Cooper (1976) caracterizaron a *A. Lemurinus* de la siguiente manera: “Es una subespecie bastante variable, que aparece con bastante frecuencia en dos fases de color, que se pueden encontrar en el mismo grupo familiar. Uno es marrón grisáceo, y el otro es más marrón rojizo en las partes superiores. Sin embargo, se puede encontrar un rango de coloración intermedia. Las partes inferiores son siempre de un amarillo bastante

opaco, indistinguible de *A. griseimembra* y *A. zonalis*. El pelaje es extremadamente largo y suave y es la característica distintiva más valiosa, sin embargo, la longitud del pelaje se debe a la ubicación geográfica de esta especie que está por encima de 1500 msn".

Las diferencias fenotípicas más importantes entre estos taxones son las manos, pies negruzcos y el pelaje corto de *A. zonalis*; los pies, manos parduscos y el pelaje corto de *A. griseimembra*, y las manos, pies negros o marrones y el pelaje largo de *A. lemurinus*. Los especímenes de los Andes occidentales y la mayoría de los Andes centrales tienen pelos de punta negra en las manos y pies. Unos pocos especímenes de los Andes occidentales y varios de los Andes centrales aparecen de color variable en las regiones metatarsianas y metacarpianas. En los Andes Orientales se produce una variación individual, desde puntas negras extensas hasta puntas reducidas, típico de *A. griseimembra* (Hernández Camacho y Cooper 1976).

En las tres especies también hay dos fases de color, una fase grisácea general clara y una fase marrón rojiza más oscura con variaciones intermedias. Es probable que estos dos aparezcan en el mismo grupo familiar (Hernández-Camacho y Cooper 1976).

Para estimar la estructura y el tamaño de los grupos, contamos el número de individuos por grupo y examinamos la categoría de edad a la cual pertenecían: adultos, subadultos, juveniles e infantes. Para asignar las categorías de edad se definieron como adultos aquellos animales con una mancha oscura en la base ventral de la cola, en posición caudal a los genitales. Esta coloración es provocada por la secreción de la glándula subcaudal (Aquino y Encarnación 1994). Se definieron como subadultos aquellos individuos de tamaño similar a los adultos, pero con la región subcaudal pobremente coloreada; como juveniles a los individuos sin coloración subcaudal, de tamaño inferior a los adultos y que se movilizaban independientemente y como infantes aquellos individuos sin coloración subcaudal, con la mitad o menos del tamaño de los adultos y que dependen parcial o totalmente para su

desplazamiento de uno de ellos. No fue posible diferenciar el sexo de los individuos observados, ya que los monos nocturnos no presentan dimorfismo sexual obvio a distancia (Ford 1994, Fernández-Duque et al 2001).

Tabla 3. Características fenotípicas de los monos *Aotus*. Hernández Camacho & Cooper (1976) y Hershkovit (1983)

	Cuello gris	Cuello rojo
Especies	<i>Aotus lemurinus</i> <i>Aotus griseimembra</i> <i>Aotus zonalis</i> <i>Aotus brumbacki</i> <i>Aotus trivirgatus</i> <i>Aotus vociferans</i> <i>Aotus jorgehernandezi</i>	<i>Aotus nancymae</i> <i>Aotus nigriceps</i> <i>Aotus miconax</i> <i>Aotus azarae</i> <i>Aotus hershkovitzi</i>
Cabeza y cuello	Toda la parte del cuello, incluida el área detrás y debajo de las orejas, un color grisáceo a parduzca o castaña. El cuello puede variar de color y pasar de parduzca a naranja o amarillo claro	Parte o todo el lado del cuello, incluido el área detrás y debajo de las orejas y no menos que la porción medial y la mitad posterior de la garganta es de color naranja.
Cuerpo	Pelaje del dorso corto Coloración de las partes superiores del cuerpo varia	Coloración naranja en todo el área del pecho
Extremidades y cola	Completamente grisáceo tanto la parte interna como la externa o con naranja en algunas especies, que se extiende hasta el vientre Puede estar presente la cresta interescapular	Coloración naranja en toda la parte interna de las extremidades
Descripción	 <p>Fuente: M. Vargas Madrid</p>	 <p>Fuente: F. Cornejo</p>

A. brumbacki. Esta especie también es de pelo corto, con dos franjas temporales que continúan como franjas sombrías, que parecen fusionarse en una mancha generalmente oscura en la parte superior y posterior de la corona presenta espiral o cresta interescapular. El cuerpo generalmente tiene un tono grisáceo y no hay una franja dorsal media; una banda pálida entre los parches supra orbitales y suborbitales leves se ve interrumpida por una extensión de la franja temporal negra hacia la esquina externa del ojo; una franja malar negra está presente. (Figura 6). Hershkovitz (1983) distinguió a *A. brumbacki* del complejo *A. lemurinus* y de *A. trivirgatus*, porque *A. brumbacki* tiene una espiral o cresta interescapular que no está presente en los demás. Estos caracteres tienen un valor diagnóstico cuestionable.



Figura 6. *Aotus brumbacki*. Hershkovit (1983)

Según Hershkovitz (1983): *A. vociferans* tiene una espiral interescapular con una glándula centrífuga y una glándula gular más o menos circular, los pelos circundantes irradian desde el centro como una espiral. Una característica útil señalada por Ford (1994) en esta especie es que las franjas de la cabeza casi siempre convergen hacia atrás (Figura 7).

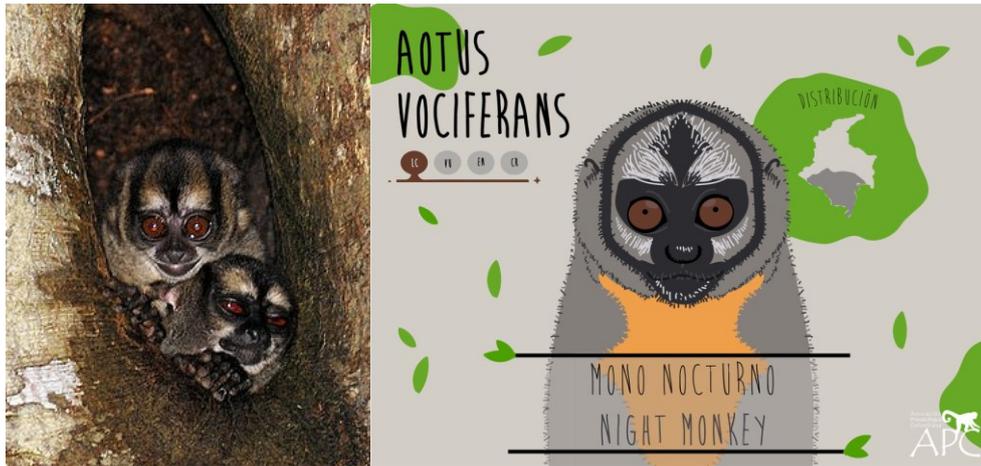


Figura 7. *Aotus vociferans*. Asociación primatologica Colombiana (2017)

A. trivirgatus es el *Aotus* de cuello gris más divergente y mejor definido del grupo. No hay espirales, crestas o mechones y las franjas de la cabeza no se unen posteriormente, siendo este un carácter muy confiable de la especie. El dorso es usualmente grisáceo con una banda media y profunda naranja estrecha y fuertemente contrastante. Lado interior de las extremidades con naranja o beige, al igual que el pecho y el vientre, extendiéndose hasta muñecas y tobillos, terminando con la mitad del pelo sin bandas oscuras. El pelaje del dorso es corto, tupido, predominantemente grisáceo en las partes superiores, algunas veces beige anteaado con bandas oscuras medio dorsales angostas que contrastan fuertemente con el naranja del cuello y vientre. Morfo métricamente, esta especie se distingue fácilmente del resto del norte de *Aotus* también, con una variación canónica de las mediciones craneales que separan a *A. trivirgatus* completamente de las otras especies del norte (Ford 1994) (Figura 8).



Figura 8. *Aotus trivirgatus*. Humblet (1812)

A. jorgehernandezii. Se caracteriza por dos parches blancos supra oculares sobre cada ojo, separados por una amplia y delgada franja frontal negra a cada lado de la cabeza. La parte ventral de los brazos desde las muñecas que suben hasta el pecho y el abdomen son de piel gruesa y anaranjada. El dorso es principalmente gris pero con una banda anaranjada fuertemente contrastada con gris (Defler & Bueno 2007) (Figura 9).



Figura 9. *Aotus jorgehernandezii* (Torres et al 1998).

A. nigriceps. También llamado “Mico nocturno de cabeza negra”, característica útil para su diferenciación (Figura 10). Se caracteriza por tener el cuello totalmente anaranjado y no presenta cresta interescapular. (Defler, 2010).



Figura 10. *Aotus nigriceps*. Du santos (2008)

A. nancymae. No presenta cresta interescapular. Posee un pelaje corto, suave y denso que varía entre gris a marrón brillante, posee una banda rojiza-naranja alrededor del cuello y en la cara interna de las extremidades y base de la cola (Maldonado, 2017). La superficie superior de la porción próxima posee un listón negro y en la superficie ventral en su mayoría es de color negro (Defler, 2010) (Figura 11).



Figura 11. *Aotus nancymae*. Sánchez (2019)

2. Cariotipo

Un cariotipo es un conjunto de cromosomas en metafase, de una célula de un individuo o de una especie, después del proceso en que se unen por pares de cromosomas idénticos y se clasifican según determinados criterios. Los cromosomas en cada especie poseen una serie de características, como la forma, el tamaño, la posición del centrómero y las bandas que permiten diferenciarlos unos con otros (Morales, 2011).

Para el género *Aotus*, se encuentran formas cariotípicas que van desde 44 a 58 cromosomas (Arenas, 2012) (Tabla 3)

Tabla 4. Caracterización cariologica de monos *Aotus*. Defler (2010)

Especie	Cariotipo (2N)
<i>Aotus lemurinus</i>	58
<i>Aotus griseimembra</i>	52,53,54
<i>Aotus zonalis</i>	54,56
<i>Aotus brumbacki</i>	50
<i>Aotus vociferans</i>	44,45, 46
<i>Aotus nancymae</i>	54
<i>Aotus jorgehernandezi</i>	50
<i>Aotus hershkovitzi</i>	58

→ Método 1: Moorhead et al. (1960)

1. Siembra

Para llevarse a cabo el procedimiento de cario tipificación, se requiere que cada cultivo se llevó a cabo en condiciones asépticas con 1 a 3 ml de sangre total heparinizada, para la obtención de los cromosomas metafísicos, en 8 ml de RPMI 1640 (SIGMA® R6504), con suero fetal bovino al 10%, 100 µg/ mL de estreptomycin, 100 UI de penicilina y 0,1 mL de

fitohemaglutinina, PHA, (SIGMA®). Se incuba a 37 °C durante 72 h. Seis horas antes de la cosecha, se agrega 100 µL de BrdU (2µg/mL) (SIGMA®). 30 min previo a la cosecha, los cultivos fueron sometidos a un bloque mitótico con 100 µL de colcemid (10 µg/mL) (SIGMA®) (Posada, et al 2012)

2. Cosecha

Los cultivos en suspensión, se centrifugaron a 800 gramos durante 10 min, para descartar el sobrenadante. Después de homogenizar el pellet, se aplica una solución hipotónica de KCl (0,075 M) durante 10 min. Se centrifuga a 800 g durante 10 minutos y se realiza fijación utilizando un fijador fresco preparado con metanol: ácido acético (MERCK®), en proporción 3:1. La fijación de la muestra se llevó a cabo agregando gota a gota el fijador, mediante agitación fuerte, y maniobrando rápidamente la muestra. Los tubos se dejan reposar por 15 min a temperatura ambiente. Posteriormente, se realiza centrifugaciones sucesivas bajo las mismas condiciones, retirando en cada caso el sobrenadante y re suspender el pellet en fijador.

3. Goteo

El goteo se realiza sobre un portaobjetos previamente con etanol (MERCK®). Una vez goteadas las placas, se flamea y se controla la temperatura. (Posada et al, 2012).

4. Cariotipo y coloración

Las láminas fueron coloreadas usando el método de Camargo y Cervenka (1982). Las láminas durante 3 a 5 días fueron sumergidas en solución de bisbenzimidida (SIGMA®) a 0.3 µg/ mL durante 10 minutos. Posteriormente, se lava con agua destilada y se seca suavemente para remover el exceso de agua. Cada lámina, en posición horizontal, se impregna homogéneamente con 2xSSC y se cubre con una laminilla cubreobjetos (60 x 22

mm). Cada lámina se expuso a iluminación con una lámpara Sylvania Capsylite 75w, 120w PAR 30, durante 45 min. Pasado este tiempo, se remueve la laminilla y se lava con agua destilada. Luego, se le agrega Giemsa al 4% durante 3 min y se retira el exceso de colorante lavando con agua destilada. La muestra se seca con un mechero, controlando la temperatura.

Los extendidos cromosómicos se analizan en un microscopio con objetivo de inmersión 100X. Se seleccionaron mitosis en estadio III replicativo para la elaboración del cariotipo (Posada, et al 2012). El estadio III del cariotipo de una especie revela un patrón de bandas cromosómicas.

Los cromosomas se ordenan en base en sus medidas (tamaño) y posición del centrómero. Se estima el índice del centrómero y se clasifican en (1) metacéntrico,(2) submetacéntricos, (3) acrocéntricos y telocéntricos.. La morfología cromosómica se da a partir de las longitudes del brazo largo y brazo corto. Se consideran cromosomas de un solo brazo todos aquellos clasificados como acrocéntricos, incluyendo cromosomas telocéntricos y subtelocéntricos (Arenas, et al 2012).

3. PCR convencional

La reacción en cadena polimerasa (PCR) es una técnica sensible y útil para generar varias copias de secuencias de ADN, este proceso se le conoce como: amplificación de ADN (Bolívar, 2012). Fue desarrollada en 1983 por el Doctor Kary Mullis. En este proceso se requiere la utilización de la enzima “Taq polimerasa” que trabaja a temperaturas muy elevadas, ya que proviene de la bacteria *Thermus aquaticus* que vive a altas temperaturas (79°C a 85°C), de ahí su nombre.

Cada reacción de PCR contiene un volumen final de 25 microlitros. Lo más importante es hacer la mezcla de PCR lo más homogénea posible, ya que se asegura la obtención de

resultados reproducibles. Se utiliza: (1). Mantiene el PH adecuado para el funcionamiento de la ADN polimerasa (incluye Tris-HCl, KCl, gelatina y MgCl₂), (2) Desoxirribonucleosidos trifosfato (dNTPs). Son los ladrillos que construyen las nuevas cadenas de ADN), (3) MgCl₂. Actúa como cofactor de la enzima por lo tanto tienen una función crítica en la reacción, (4) Primers. Son fragmentos complementarios que se van a unir a cada una de las dos cadenas separadas del ADN (Cortázar, et al. 2004). Delimitan la zona de ADN a amplificar. Al ser reconocidos por la enzima permiten iniciar la reacción. Los primers son extendidos por la DNA polimerasa (en dirección 5' – 3'), dando como resultado dos copias de la molécula original de DNA doble cadena (Bolivar, 2013), (5) Taq polimerasa. Su capacidad para mantener su funcionalidad a temperaturas altas, por lo que se le considera una enzima termoestable (Tamay de Dios, 2013).

1. Ciclos de reacción de PCR

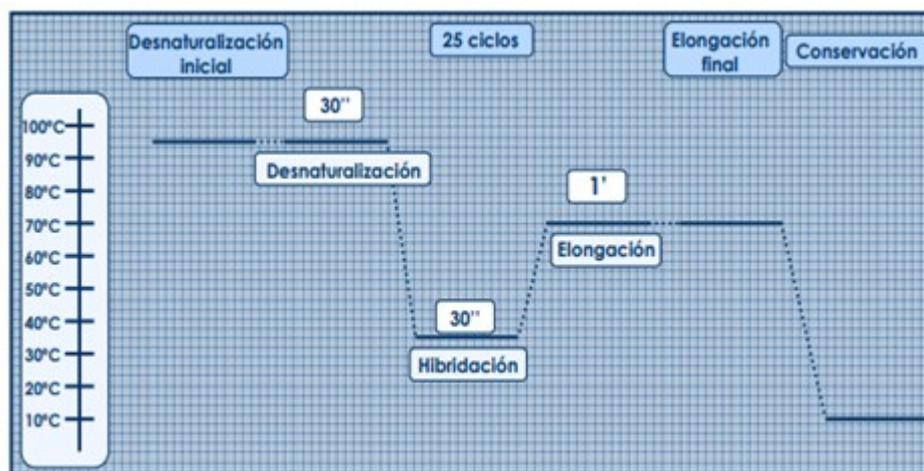


Figura 12. Reacción en cadena de la polimerasa. Perfil térmico típico de una PCR. (Pérez de Castro, 2011)

El paso a seguir es colocar los tubos en el termociclador, que sirva para calentarlos o enfriarlos a temperaturas muy distintas, que se repiten una y otra vez, llamados “ciclos de reacción” (Figura 5). Estos ciclos son: **(I) Desnaturalización:** A una temperatura de 95°C

durante 30-60 segundos, la cual las dobles cadenas de ADN se abren y se desnaturalizan, quedando en forma de cadenas sencillas (Espinoza, 2012). **(II) Alineamiento:** Consiste en la hibridación de los primers. Para ello se baja la temperatura y las condiciones serán tales que se facilitará la unión de los primers a las cadenas. La temperatura y el tiempo requerido para el alineamiento de los primers dependen de la composición, tamaño y concentración de los primers amplificadores. (Cortázar, et al. 2004). El termo ciclado ajusta la temperatura en un intervalo entre 40°C-60°C, durante 30-60 segundos. En esta temperatura se forman y se rompen constantemente los puentes de hidrógeno entre los oligonucleótidos y ADN, y aquellas uniones más estables (las complementarias) durarán mayor tiempo, quedando los oligonucleótidos “alineados” formando una pequeña región de doble cadena. La polimerasa se une a este pequeño pedazo de ADN de doble cadena y comienza a copiar en sentido 5' a 3'; al agregar unas bases más, los puentes de hidrógeno que se forman entre las bases estabilizan más la unión y el oligonucleótido permanece en este sitio para el siguiente paso (Espinoza, 2012). **(III) Extensión:** Después la temperatura sube a 72°C, durante 1-2 minutos. Es la temperatura en la cual la polimerasa alcanza su máxima actividad, y continúa la síntesis de los fragmentos de ADN a partir de los oligonucleótidos que ya se habían alineado (Espinoza, 2012).

- Número de ciclos:

En el primer ciclo, con estas tres temperaturas, se sintetizaron los primeros fragmentos a partir del ADN genómico. Estos primeros fragmentos no tendrán el tamaño esperado, serán un poco más grandes ya que la Taq (ADN polimerasa termoestable) copiará hasta donde le sea posible, y más adelante, se obtendrá cantidades tan pequeñas que no se van a poder detectar. Después se repiten una vez más las tres temperaturas, pero en este segundo ciclo, los oligonucleótidos, además de unirse al ADN que se puso al inicio, también se unirá los fragmentos recién sintetizados del primer ciclo, por lo tanto, en este segundo paso la

polimerasa sintetiza 2 fragmentos largos copiados directamente del ADN y 2 fragmentos del tamaño esperado, que es el tamaño que hay entre los dos oligonucleótidos que se ha usado. De esta forma con cada ciclo aumentará el número de fragmentos del tamaño que se requiere (Espinosa, 2012).

Estas tres etapas comprenden un ciclo de amplificación en la PCR. Este ciclo de amplificación se repite usualmente de 20 – 40 veces.

2. Electroforesis

La electroforesis consiste en la separación de grandes moléculas como los ácidos nucleicos a través de una matriz sólida que funciona como un filtro para separar las moléculas en un campo eléctrico de acuerdo a su tamaño y carga eléctrica. Esta separación se hace bajo un buffer o tampón que puede ser TAE o TBE. Para ello, se prepara un gel diluyendo una cantidad de agarosa en el buffer, se calienta hasta que la agarosa hierva lo suficiente y posteriormente se vacía a un recipiente que sirve de base para que solidifique. Generalmente el porcentaje al que se prepara el gel es del 1.2%, dependiendo del tamaño de las moléculas, puede ser de hasta el 2%. Otro ingrediente que se agrega al gel es un compuesto conocido como bromuro de etidio, una molécula intercalante capaz de unirse al ADN de doble cadena. Cuando es excitado con luz UV emite una señal que permite la visualización de los amplicones en forma de bandas. Es importante manipular con mucho cuidado este compuesto porque se sabe que es mutagénico y teratógeno. (Tamay de Dios, et al. 2013).

Finalmente, la visualización de los amplicones se lleva a cabo tomando una foto digital al gel de agarosa expuesto a luz UV; adicionalmente un procesador de imágenes se encarga de analizar las bandas observadas. La combinación adecuada de todos los elementos químicos mencionados hacen posible la síntesis in vitro del ADN utilizando la PCR (Tamay de Dios, et al. 2013)

Metodología

La realización de este trabajo se llevó a cabo con una revisión literaria, se seleccionaron artículos científicos, así como artículos de revisión y libros; a partir de los cuales se analizó la información en inglés, italiano, portugués, francés y español.

Criterios de selección de los documentos:

Inclusión

- Fecha de publicación de artículos científicos no mayor a 15 años.
- Fecha de publicación de revisiones literarias (Trabajos de grado) no mayor a 10 años
- Libros y revisiones literarias sin límite de año.
- Técnicas moleculares y citogenéticas no mayores a 15 años.
- Identificación fenotípica sin límite de año
- Palabras claves: *Aotus*, identificación fenotípica, citogenética, marcadores moleculares.
- Base de datos: Science direct, Web of science, Elsevier, Scopus, Gale onefile.

Exclusión

- Fecha de publicación antes del 2005 en artículos científicos
- Fecha de publicación antes del 2010 en revisiones literarias

Tipo de estudio:

Se utiliza un método de estudio descriptivo documental.

En la tabla 7 se analizó y se comparó la información de los diferentes métodos de identificación describiendo las ventajas y desventajas de cada una.

Resultados

Se obtuvo un total de 51 referencias, a los cuales se les aplicaron criterios de inclusión y exclusión consistentes en vigencia y aporte a la temática a tratar. Con los que se construyó una base de datos a partir de la cual se efectuó un análisis para su clasificación por tema de interés, autores y fechas de publicación. Y de los cuales se clasificaron por temas (Tabla 5).

	Artículos científicos	Libros	Trabajos de investigación	TOTAL
Identificación fenotípica	5	2	-	7
Citogenética (cariotipo)	8	-	1	9
Marcadores moleculares (PCR)	3	3	2	8
TOTAL	16	5	3	

Los temas restantes incluyen estado de conservación, distribución, comportamiento de los monos *Aotus*, incluye 13 artículos científicos, 10 libros y 4 trabajos de grado e investigación

Se realizó un análisis de información de artículos científicos en diferentes idiomas (Tabla 6)

	Francés	Italiano	Portugués	Inglés	Español
Artículos	1	1	1	19	29

De acuerdo a los objetivos anteriormente mencionados, el método más exacto para la asignación de especies del género *Aotus* es el método de **cariotipo**

Tabla 7. Ventajas y desventajas de los métodos de identificación de especies.

Método	Ventajas	Desventajas
Identificación fenotípica	<ul style="list-style-type: none"> ● Permite distinguir los grupos de <i>Aotus</i> de “cuello gris” y “cuello rojo”, y separa las especies que provienen del sur y del norte. 	<ul style="list-style-type: none"> ● La diferenciación fenotípica es pobre y limitada, ya que los <i>Aotus</i> tienden a ser fenotípicamente similares.
PCR convencional	<ul style="list-style-type: none"> ● Es una de las técnicas más utilizadas. ● Presenta rapidez, buen límite de detección, especificidad y sensibilidad. ● Esta elevada sensibilidad ha permitido el desarrollo de nuevos métodos para el estudio molecular y aparición de numerosas aplicaciones. ● Muchas de sus aplicaciones consisten en la detección de virus, agentes infecciosos, enfermedades hereditarias, trastornos autoinmunes, mutaciones, entre otras. ● Las muestras se obtienen de sangre, pelo o tejido. 	<ul style="list-style-type: none"> ● Aún no están ampliamente incorporado en los métodos estandarizados, por lo cual resultan inadecuados en algunos casos (como en este tipo de identificación de <i>Aotus</i>) ● Polimorfismo y diversidad alélica al momento de asignar la especie, lo que podría generar un diagnóstico de identificación errado.
Cariotipo	<ul style="list-style-type: none"> ● Método más usado en la identificación de especies de monos <i>Aotus</i>. ● Permite diferenciar grupos taxonómicos con características externas semejantes y grupos diferentes. ● Proporciona una herramienta útil para el estudio y la explicación de ciertos interrogantes en taxonomía, así como en procesos de especiación y evolución. ● Permite describir de forma exhaustiva las características propias de una especie o un grupo de especies. ● Analiza las formas cromosómicas de las especies 	<ul style="list-style-type: none"> ● Las muestras solo se pueden obtener de sangre periférica.

	<p>a través de la comparación de los cariotipos.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Permite detectar anomalías cromosómicas ● Alta sensibilidad y especificidad. 	
--	--	--

Discusión

Desde la década de los años 70 ha existido un creciente interés en el análisis de las características genéticas de diversas especies de Primates neotropicales, tanto desde el punto de vista de la estructura genética y de su relación con la estructura reproductiva, como de la conservación genética y de la filogenia de este importante grupo de mamíferos neotropicales. (Ruiz-García 2007). Entre los estudios más destacables, cabe citar estudios citogenéticos y moleculares. (Tabla 6).

La mayoría de los primatólogos tienen dificultades considerables para distinguir las especies de *Aotus* fenotípicamente. Hershkovitz (1983) sostuvo que cada especie de *Aotus* es distinguible fenotípicamente, cariotípicamente y a través de proteínas séricas. Al evaluar las características morfológicas por color, puede ayudarnos a distinguirlos; fenotípicamente es fácil separar las especies del sur “Cuello rojo” de las especies del norte “Cuello gris” “pero hay que tener en cuenta que, debido al pelaje o el color, no es fácil para los no expertos poder identificarlos y a menudo genera un mal diagnóstico. Aunque Hershkovitz (1949, 1983) y Hernández-Camacho y Cooper (1976) identificaron y describieron con confianza varias poblaciones de *Aotus* en sus publicaciones, encontramos que la tarea es muy difícil, especialmente porque los diferentes caracteres varían independientemente en el rango de la especie y muchos caracteres no parecen exhibir variaciones regulares. Es posible que Hershkovitz y Hernández Camacho tuvieran habilidades especiales que provienen de muchos años de estudio de *Aotus* (Defler, 2010). Pero para los no expertos en

monos *Aotus*, la diferenciación fenotípica es pobre y limitada. Es por eso que se hace indispensable la asignación de especies mediante marcadores citogenéticos y moleculares.

En este caso, hay varias especies que han sido reconocidas y descritas sólo a través de sus cariotipos, incluso especies hermanas (*A. lemurinus* subespecie *A. lemurinus lemurinus*, *A. griseimembra* y *A. zonalis*) son muy difíciles de distinguir fenotípicamente, pero el análisis citogenético puede ser de gran ayuda para diferenciarlos genotípicamente.

Los estudios citogenéticos recientes han indicado que *Aotus* tiene muchas variaciones cariotípicas que difieren una de la otra dependiendo de la ubicación regional, por esto es importante tener presente el número cromosómico y la presencia de marcadores específicos para la asignación de la especie y el posible origen geográfico de los ejemplares decomisados.

Para el género *Aotus* entonces se encuentran formas cariotípicas que van desde 46 a 58 pares de cromosomas, la asignación incorrecta puede conducir a la hibridación y alteraciones reproductivas; es por esta razón que se han realizado diferentes investigaciones dentro de las cuales se han utilizado diversos marcadores citogenéticos como cariotipos y marcadores moleculares como por ejemplo el uso de PCR, ya que son herramientas importantes dentro de los estudios biológicos ya que posibilitan la identificación de un especie y pueden ser usadas para establecer procesos de especiación

Con el avance tecnológico en el desarrollo de técnicas moleculares a partir de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la cual permite la amplificación exponencial de secuencias específicas de ADN a partir de pequeñas muestras, la PCR ha sido la principal herramienta diagnóstica a tal punto de alcanzar gran valor y versatilidad como técnica de análisis debido en parte, a su adaptabilidad y aplicabilidad (Bolívar. 2014). Esta técnica tan ingeniosa tiene muchísimas aplicaciones distintas e ilimitadas y se ha convertido en una herramienta muy importante en la biología molecular; sus aplicaciones van desde la

genética de poblaciones, evolución molecular y genómica, detección de mutaciones, seguimiento de tratamiento de enfermedades, diagnósticos de enfermedades genéticas e infecciosas a partir de la detección de ADN una bacteria o virus, hasta la medicina forense en la identificación de restos biológicos, determinación de paternidad y pruebas periciales en criminalística. Igualmente, estos marcadores se han utilizado para clasificar individuos, según el grado de parentesco dentro de poblaciones de especies en peligro de extinción, y así proceder a su reproducción controlada (Ruiz-García 2007).

Los marcadores moleculares, en combinación con métodos de reconstrucción filogenética, han sido utilizados desde hace décadas para la reconstrucción de las relaciones evolutivas entre especies, con la aspiración última de reconstruir el árbol de la vida (Maddison et al. 2007). En el contexto de la conservación, este tipo de enfoques permiten tomar en consideración las divergencias evolutivas en las medidas de biodiversidad (Faith 2002) e invocar a la distinción filogenética como criterio para asignar prioridades de conservación (Isaac et al. 2007).

Pero, a pesar que la PCR ha permitido el análisis genético de diversos taxones y de todos los beneficios nombrados anteriormente. En este tipo de investigación el cual nos basamos en la identificación de las especies de monos *Aotus*, la PCR presenta una gran desventaja, ya que esta prueba genera un alto grado de polimorfismo y diversidad alélica exhibida por las moléculas, que dificulta la ubicación de esos alelos, dentro de una especie específica, lo que podría generar un diagnóstico controversial (Ruiz-García,2007).

Con esto, podemos decir que el mejor método para la identificación de especies de monos *Aotus*, es a través del cariotipo que permite diferenciar grupos taxonómicos con características externas similares y grupos aparentemente distintos que es fundamental para su conservación en la naturaleza y en cautiverio. La citogenética aporta una herramienta útil para el estudio de problemas evolutivos, especiogénicos y taxonómicos. Los cromosomas

se catalogan como estructuras altamente compactas capaces de albergar la información genética de un individuo. Cada especie tiene un set particular de cromosomas caracterizados por número, morfología (posición del centrómero), tamaño y patrón de bandeo (tinción cromosómica) conformando así el cariotipo (Arango, 2011). La organización final de los cromosomas teniendo en cuenta los anteriores aspectos, conforma el cariotipo de la especie y su comparación con especies relaciones puede establecer posibles caminos o procesos evolutivos en análisis filogenéticos (Li et al 2004, Wienberg et al, 2005). Otras de las utilidades del cariotipo es detectar anomalías en el número o en la forma de los cromosomas, y así poder detectar enfermedades.

Esta técnica es la ideal por su gran sensibilidad y especificidad a la hora de identificar los monos *Aotus*, ya que una de sus objetivos es la de definir especies, si entendemos que cada una de estas se encuentra determinada por un cariotipo definido, como lo vemos en la tabla 3, en el cual cada especie de *Aotus* presenta un número diferente de cariotipo, por lo cual queda más fácil identificar esta especie. De igual manera, estos análisis pueden ser tomados para establecer similitudes entre especies cercanas con el fin de establecer relaciones evolutivas.

Conclusiones

Con relación al método de identificación fenotípica, puede servir de ayuda para separar las especies del sur “cuello gris”, de las especies del norte “cuello rojo”. Sin embargo, queda muy complicado identificar cada especie, en especial las especies hermanas. Algunos *Aotus* pueden presentar características diferentes como por ejemplo el color, que puede variar siendo estos del mismo grupo familiar o especímenes individuales. Para los expertos identificar estas especies puede ser más sencillo, pero para los no expertos identificar las características que los diferencian suele ser más difícil ya que estos caracteres varían independientemente de la especie y muchos caracteres no exhiben variaciones regulares. Esto puede llevar a generar un mal diagnóstico de identificación.

Con relación al método de PCR convencional, ha sido de gran utilidad para la asignación de especies, poblaciones e individuos, además de aportar herramientas eficientes para la conservación y la gestión de especies amenazadas, y de otras muchas aplicaciones distintas y beneficiosas que posee debido a su gran versatilidad como técnica de análisis; sin embargo en este tipo de identificación de *Aotus*, podría ser muy pobre la información que se obtenga debido al polimorfismo y diversidad alélica que presenta este método y los resultados obtenidos podrían no ser exactos.

Por lo encontrado en la revisión literaria, se podría sugerir que el mejor método para aclarar la filogenia e identificar especies, son los estudios citogenéticos a través de cariotipo, ya que permite una identificación taxonómica más precisa de los individuos, así como proporciona una estimación de la diversidad genética en las colonias de primates. Esto con el fin de servir como un complemento esencial de los rasgos morfológicos utilizados para su clasificación. Esto demuestra cuán útiles pueden ser los estudios cariológicos. Sin embargo, presenta cierta desventaja a la hora de la toma de las muestras,

puesto que necesariamente tiene que ser con sangre periférica para poder realizar el cultivo, esto puede dificultarse debido al tamaño del animal, ya que entre más pequeños sean, menos probabilidad tienen que se pueda obtener una muestra. Lo que no sucede con el PCR convencional que puede tomarse muestras de pelo, tejido o sangre.

Es ideal que todos los primates, en especial los *Aotus*, deban estudiarse a nivel cariológico, por lo que anteriormente se consideraba un género mono específico. DeFler (2004) señala que “el género *Aotus* en realidad forma un complejo de especies hermanas”. Por lo tanto, son muy difíciles de distinguir fenotípicamente.

Con relación a lo anterior, cabe mencionar que el método de identificación fenotípica y el método de Pcr convencional, no son 100% específicos, ya que presenta limitantes a la hora de identificar especies. Por este motivo el método más exacto para identificar especies *Aotus*, es a través de **cariotipo**.

Referencias Bibliográficas

- Aranguren et al (2009). Identificación de especies en productos de origen animal mediante PCR. Universidad de Zulia. Facultad de Ciencias Veterinarias. Laboratorio de Genética Molecular. Revista científica. Maracaibo, Venezuela. Vol. XIX, N°2, pp. 159-1
- Arenas et al (2012). Caracterización cariologica de tres monos *Aotus griseimembra* (Primates: Aotidae) mantenidos en cautiverio. Boletín científico centro de museo de Historia Natural. pp. 120-132
- Babb et al (2008). Genetic variation and population structure in the owl monkey, *Aotus azarai*. American Journal of Physical Anthropology. Web of science. pp. 60-62
- Bolívar et al. (2013). PCR y PCR-Múltiple: parámetros críticos y protocolo de estandarización. Instituto de Inmunología Clínica. Postgrado Biotecnología de + microorganismos. Facultad de Farmacia y Bioanálisis-ULA. Volumen 3(1) pp. 25-33
- Castaño et al (2010). Ecología del mono nocturno andino (*Aotus lemurinus*) en fragmentos de bosque subandinos de Colombia.. Primatología en Colombia avances al principio del Milenio Book. Fundación Universitaria San Martín. Primera edición, pp 69-86
- Cornejo, et al. (2008). Notes on the natural history, distribution and conservation status of the Andean night monkeys, *Aotus miconax*, Thomas, 1927. Primate conservation. Universidad Mayor de San Marco. Lima, Perú. Vol (23), pp. 1-4
- Cornejo et al (2015). Phylogenetic relationships of Night Monkeys (*Aotus*): Evidence from pelage coloration and molecular data.. American journal of physical anthropology. Web of Science. Vol 156, pp. 110
- Corpoamazonia. (2012). A-DTA 001. Actas de seguimiento al proceso de liberación y Reintroducción al medio natural de ejemplares de *Aotus* de la estación experimental FIDIC Leticia, Amazonas: Corpoamazonia, Dirección territorial Amazonas. pp 27.

- Couette (2007). Différenciation morphologique et génétique des populations de
douroucoulis (*Aotus infulatus*, Primates, Platyrrhiniens, Cebidae) provenant des rives
droite et gauche du rio Tocantins (Brésil). Biogéosciences et laboratoire EPHE, Centre
des sciences de la Terre, université de Bourgogne. Dijon, Francia. Vol 330 N° 2, pp
148- 158.
- Defler et al. (2001). Taxonomic status of *Aotus herskovitz*: its relationship to *Aotus*
lemurinus, *lemurinus*. Neotropical primates. Conservation International. Universidad
Nacional de Colombia, Leticia, Colombia. Vol. 9, N° 2, pp. 37-49
- Defler, Thomas et al (2007). Aotus Diversity and the Species Problem. Primate
Conservation. BioOne research involved. Universidad Nacional de Colombia,
Departamento de biología. Bogotá, Colombia, Vol 22 (1), pp 55-70.
- Defler, Thomas (2010). Historia natural de los primates colombianos. Conservación
Internacional. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de ciencias.
Departamento de biología, pp 612.
- Defler, Thomas et al (2013). Primates colombianos en peligro de extinción. Asociación
Primatológica Colombiana. Bogotá, Colombia, pp 2-86.
- Delgado et al, (2005). Phenotypical and functional characterization of non- human
Primate *Aotus spp.* dendritic cells and their use as a tool for characterizing immune
response to protein antigens. Elsevier. Vol. 23, pp. 3386-3395.
- Dumas et al (2015). Identificazione tassonomica di Aotus (Platyrrhini) mediante la
Citogenética. Chemical and Pharmaceutical Sciences and Technologies, University of
Palermo, Italy. Vol 88:5161
- Entropika (2015). Proyecto Aotus: Usando el mono nocturno como especie bandera para
erradicar el tráfico ilegal de fauna en el Amazonas colombo-peruano.
- Espinosa, Laura. (2012) Guía práctica sobre la técnica de PCR. Las herramientas

Moleculares. Pp 517-536

- FAO (2010). Marcadores moleculares: una herramienta para explorar la diversidad Genética. La situación de los Recursos zoo genéticos mundiales para la alimentación y la agricultura. Zoogenético. Roma. Pp 393-410
- Fernandez-Duque (2012). Owl *Aotus* sp in the wild and in captivity. Department of Anthropology, University of Pennsylvania. United States-Argentina. Vol 46 N°1, pp
- Fernandez-Duque / (2013). Family Aotidae (Night Monkeys). The handbook of the mammals of the world. Barcelona. Vol 3, pp 414-431
- Flórez (2016). Estandarización de la técnica de electroforesis en gel con gradiente desnaturalizante (DGGE) para la tipificación de alelos DRB del CMH II en *Aotus vociferans* (Platyrrhini). Universidad de Córdoba. Facultad de ciencias de la salud. Programa de bacteriología. Montería, Córdoba.
- Godoy (2009). La genética, los marcadores moleculares y la conservación de especies. Asociación Española Ecología Terrestre, Departamento ecología integrativa. Revista científica y técnica de ecología y medio ambiente. Vol 18 N° 1, pp 23-33
- Guzman, Adriana et al. (2016). Agroecosystems and primate conservation: shade coffee as Potential habitat for the conservation of Andean night monkeys in the northern Andes, agriculture, ecosystems and environment. Agriculture, Ecosystems and Environment Elsevier, pp 57-67.
- Herrera, Carlos. (2008). La citogenética molecular y su aplicación en el estudio de los genomas. Vegetales. Agronomía colombiana, pp. 26-35.
- Libro rojo de la fauna silvestre amenazada del Perú. (2018). Ministerio de Agricultura y Riego. Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre (SERFOR), pp 345.
- Maldonado, Ángela. (2011). Tráfico de monos nocturnos. En la frontera entre Colombia, Perú y Brasil: efectos sobre sus poblaciones silvestres y violación de las

- regulaciones internacionales de comercio de fauna estipuladas por citas. Revista de la Academia Colombiana de Ciencias exactas, físicas y naturales. Bogotá, Colombia. Volumen 35 N° 135, pp 225
- Menezes et al (2010). Identification, classification and evolution of Owl Monkeys (*Aotus*, Illiger 1811). Evolutionary biology. Universidad Federal de Rio de Janeiro. Departamento de genética. Vol 10, pp 2-15
- Milozzi et al. (2012). Uso de análisis genéticos y comportamentales en el manejo en Cautiverio Del mono de noche *Aotus azarae* (Platyrrhini: Cebidae) / Use of genetic and behavioral analysis in the captive management of night monkeys *Aotus azarae* (Platyrrhini: Cebidae). Universidad de Buenos Aires, Argentina. Vol 14 N°1, pp 9-18.
- Monsalve et al (2010). An *Aotus* karyotype from extreme Eastern Colombia. Primate Conservation. Vol 25, pp. 21-26
- Montilla, et al (2018). Distribución del mono nocturno (*Aotus lemurinus*) en el departamento de Quindío, Colombia. Notas Mastozoológicas. Programa de biología. Facultad de ciencias básicas y tecnologías. Universidad del Quindío. Vol. 4 N°2, pp 6-10
- Moreno et al. (2017). The *Aotus nancymae* erythrocyte proteome and its importance. For biomedical research. Elsevier. Colombia-Canadá. Vol 152. pp, 131-137.
- Opazo et al (2006). Phylogenetic relationships and divergence times among New World monkeys (Platyrrhini, Primates). Molecular Phylogenetic and Evolution. United States. Vol 40, N°1 pp.274-280
- Posada, et al (2012). Cariotipo del Tití Gris (*Saguinus leucopus*) mediante bandas replicativas. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de ciencias. Medellín.
- Pozzi et al (2014). Primate phylogenetic relationships and divergence dates inferred from complete mitochondrial genomes. Molecular Phylogenetics and Evolution. Science

- Direct, Vol 75, pp165– 183.
- Raaum (2013). Molecular Evidence of Primate Origins and Evolution. Department of Anthropology. New York, USA, pp 1-47
- Rueda L.E, et al. (2013) .Guía de identificación de los primates sometidos a tráfico ilegal en Colombia; Instituto de ciencias naturales. Universidad nacional de Colombia; Bogotá D.C, Colombia. Ministerio de ambiente y desarrollo sostenible. pp 94.
- Ruiz-García et al. (2010). Métodos genéticos para la reintroducción de monos de los Géneros *Saguinus*, *Aotus* y *Cebus* (Primates: Cebidae) decomisados en Bogotá, Colombia. Revista de biología tropical. Universidad de Costa Rica Vol 58 N°3
- Ruiz-Garcia et al. (2011). Molecular Phylogenetic of *Aotus* Platyrrhini, Cebidae). International Journal of Primatology. Vol 32 N°5, pp 1218-1241.
- Ruiz-Garcia et al. (2007). Estudio de 14 especies de primates platirrinos (*Cebus*, *Saimiri*, *Aotus*, *Saguinus*, *Lagothrix*, *Alouatta* y *Ateles*), utilizando 10 loci micro satélite: Análisis de la diversidad génica y de la detección de cuellos de botella con propósitos conservacionistas. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de ciencias. Bogotá, Colombia Vol 11 (2), pp 19-37.
- Rumiz. (2013). Los primates de Bolivia. Centro de Ecología. Bolivia ecológica. Revista N° 71. pp 1-32
- Shanee Sam, et al. (2015). Distribution survey, ecological niche modeling and conservation. Assessment of the peruvian night monkeys *Aotus Miconax* Thomas 1927 (Mamalia: Primates: Aotidae) in the North-eastern Peru, with notes on the distributions of *Aotus sp.* Gray, 1870. Journal of the threatened Taxa. Volumen 7, N°3.
- Sánchez, N., Gálvez, H., Montoya, E., & Gonzalo, A. (2006). Mortalidad en crías de *Aotus sp.* (Primates: cebidae) en cautiverio: una limitante para estudios biomédicos con modelos animales. Revista peruana de medicina experimental y salud pública, pp 221-

224.

Stanyon, et al (2011). Chromosome Painting in Two Genera of South American Monkeys:

Species Identification, Conservation, and Management. Cytogenetic and Genome

Research. Vol 134 N° 1, pp 40-50

Tamay de Dios, et al. (2013) Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa

(PCR) y de la PCR en tiempo real. Laboratorio de Biotecnología, Centro Nacional de

Investigación y Atención a Quemados. Instituto Nacional de Rehabilitación. México D.

F. Vol. 2, Núm. 2 pp 70-78

Trujillo, et al (2016). Primates (Aotidae). Evaluación del riesgo de extinción de las especies

de mamíferos de los órdenes: primates (monos y relacionados), carnívora (carnívoros),

Chiropteros (murciélagos), Artiodactyla (venados), Perisodactyla (dantas), sirenia

(manatíes), Cetacea (delfines), pilosa (perezosos) y Cingulata (armadillos) en

Colombia. Corporación para el desarrollo sostenible del área de manejo especial la

Macarena – Cormacarena y Fundación Omacha. Bogotá, Colombia, pp 85-90.

Urbani et al (2018). La primatología en Latinoamérica 2.. Instituto Venezolano de

investigaciones científicas IVIC. Argentina-Colombia. Tomo 1.

Vargas. (2011). Biología de la conservación de los monos nocturnos en la tri-frontera

amazónica. Universidad Nacional de Colombia. Asociación Primatológica Colombiana.

Asociación de veterinarios de vida silvestre. Programa de educación ambiental,

Entropika Colombia.

Vargas. (2013). Evaluación de la población de monos nocturnos (*Aotus sp.*). En la región

de frontera Colombia-Perú. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de ciencias.

Departamento de Biología. Bogotá, Colombia.

Vesga, Alejandro (2014). El poder de los micos: Patarroyo y la vacuna que no llega.

Uniandes. Publicado en la sillavacia

Vidal et al. (2013). Extensão da distribuição geográfica de *Aotus vociferans* (Primates, Aotidae). Centro Naci de Pes e Conservação da Socio-biodiversid, Brazil. Vol 20, N°1. pp 179-182

Williams, et al. (2017). Socialization of adult owl monkeys (*Aotus* sp.) In captivity Department of Veterinary Sciences, UT M.D. American Journal of primatology. Bastrop, Texas.